

論文審査の結果の要旨

氏名 前田海成

本論文は General Introduction、1章、2章、3章、General Discussion の構成になっており、1章では細胞外多糖合成の基質となる糖ヌクレオチド二リン酸合成酵素の同定、2章ではセルロース合成酵素の新規成分の同定と低温誘導、3章では、固有の硫酸多糖の合成酵素群の同定と制御について述べており、全体としてシアノバクテリア（藍藻）における細胞外多糖の合成酵素とその制御を分子生物学的に解明した総合的で画期的な研究となっている。

General Introduction では、細菌の細胞外多糖、動物の硫酸多糖、植物のセルロースの合成系の特徴を、本研究テーマのシアノバクテリアの細胞外多糖と比較して概説している。また、シアノバクテリアは多種多様な細胞外多糖を合成するにもかかわらず、その合成系の知見は少ないこと、シアノバクテリアは植物の葉緑体の祖先生物であり細菌と真核生物をつなぐ進化的に重要な生物である。このような背景から、本研究の戦略的方針について述べている。

1章では、糖ヌクレオチド二リン酸合成酵素のうち、細胞外多糖の合成基質としてもっともよく使われる UDP-グルコースを供給する UDP-グルコースピロホスホリラーゼが多くのシアノバクテリアにおいて不明であることを契機として、未知酵素の探索を行った。その結果、すべての種に存在する新規の UDP-グルコースピロホスホリラーゼを見いだし、CugP と命名した。その進化系統解析から見いだされたプロテオバクテリアと原始シアノバクテリア *Gloeobacter* の CugP 様酵素に注目し、その活性と比較ゲノム解析を行った。その結果、プロテオバクテリアの限定された種に存在する近縁酵素も CugP であり、シアノバクテリアの CugP が水平伝播で移行した可能性が強く支持された。*Gloeobacter* の酵素も基質特異性が少し変化した CugP であった。また、CugP と近縁な未同定酵素の活性測定から、これまで報告のない GDP-グルコースピロホスホリラーゼであることが判明した。そのため、これを CggP と命名した。これらの酵素はシアノバクテリアにおける細胞外多糖の合成にかかわる可能性とともに、古細菌や真核生物への進化の重要な鍵となる酵素であった可能性が明らかになった。

2章では、好熱性シアノバクテリアの細胞外多糖としてよく知られているセルロース

合成酵素の必須因子と低温誘導について研究した。所属研究室の先行研究によってすでに、細胞凝集を引き起こすセルロース合成には、青色光照射による c-di-GMP という活性化シグナル分子と低温条件、セルロース合成酵素本体 (TII0007) が必要であることがわかっていた。そこで、この低温条件で誘導される因子を探索し、*tlr0903* と *tlr1902* 遺伝子を見出した。とくに *tlr0903* を、c-di-GMP 合成酵素遺伝子と *tII0007* 遺伝子とともに強制発現することで、通常条件で細胞凝集とセルロース生産を引き起こすことができた。その産物 Tlr0903 の構造予測から、TII0007 と複合体を形成してセルロースを分泌する役割、Tlr1902 はセルロース繊維の整形の役割が推定された。これらの遺伝子産物が形成するセルロース合成酵素システムはこれまでに報告のないものであるため、Xcs システムと命名した。セルロース合成酵素システムの進化系統解析から、多くの細菌のセルロース合成システムは、シアノバクテリアのシステムから派生した可能性が推定された。

3章では、常温性のモデルシアノバクテリアにおいて、「水の華 (ブルーム)」と呼ばれる浮遊細胞塊を形成する現象を発見し、その原因物質 (硫酸多糖) とその合成遺伝子クラスタを同定した。一般にはブルーム形成には細胞内ガス胞が重要といわれてきたが、本研究では細胞外へ分泌する多糖と光合成による気体の発生 (酸素と考えられる) の組み合わせで、すみやかにブルームが形成されることを初めて実証した。この現象を手がかりとして、網羅的遺伝子破壊解析から原因遺伝子の一部を同定した。その遺伝子は 19 個の関連遺伝子クラスタとして存在しており、その遺伝子破壊から、ほぼすべてがブルーム形成の原因多糖である硫酸多糖の合成にかかわっていた。この遺伝子クラスタは 2 個の硫酸基転移酵素、8 個の糖転移酵素とフリッパーゼなどをコードしていることから、硫酸基の転移とともに 8 個の単糖をつないだオリゴ糖を繰り返し単位として合成し、細胞外へ輸送後に相互に連結することで、高分子の硫酸多糖を分泌すると考えられる。また、このクラスタに含まれる調節遺伝子の破壊と強制発現解析から、環境シグナルの感知とシグナル伝達、遺伝子の発現制御因子を同定した。さらにその標的遺伝子の解析と多糖分析から、これらの調節はいくつかの遺伝子だけを対象としていること、そのため多糖の組成が環境変化などで変動しうることが明らかになった。本研究で明らかになった硫酸多糖の合成遺伝子群は、高等動物の例を除くと初の成果であり、大量生産などの応用の可能性も提示された。

General Discussion では、本研究のまとめとともに、多糖合成にかかわるさまざまな遺伝子の進化系統におけるシアノバクテリアの役割・意義を議論しており、また多様な細胞外多糖の生理的役割、生態的役割について議論し、今後の研究の展望を述べている。

したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものであると認定する。